# PCT WELTORGANISATION FOR GESTIGES EIGENTUM INTERNATIONALE ANMELDIING VEROPERNILICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENABBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

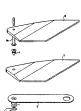
<ul> <li>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP/86/03075</li> <li>(22) Internationales Anmeldedatum: 25. Mai 1998 (25.05.98)</li> <li>(23) Internationales Anmeldedatum: 25. Mai 1998 (25.05.98)</li> <li>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten auster US): AGROBIOGEN GMBH (DE/DE): Thalmannsdorf 25. Laerzhausen, D-86567 Hilgertshausen (DE). Aller (DE): Thalmannsdorf 25. Laerzhausen (Fig. 1998)</li> <li>(72) Erfinder; und (73) Erfinder/anmelder (nur für US): BREM, Contiried (DE/DE): Thalmannsdorf 25. Laerzhausen (DE). (DE).</li> <li>(74) Anwaltz STRAUS, Alexander, Kirischner &amp; Kurig, Soliner Strause 38, D-81479 München (DE).</li> <li>(74) Anwaltz STRAUS, Alexander, Kirischner &amp; Kurig, Soliner Strause 38, D-81479 München (DE).</li> </ul>	(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : G01N 1/08 // C12Q 1/68, A22B 5/00, G01N 33/12	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/61882  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 2. Dezember 1999 (02.12.99)
	(22) Internationales Anmeidedatum: 25. Mai 1998 ( (71) Anmeider (Fir alle Bestimmungsstaaten ausz- AGROBIGEN GMBH (IDEDE): Thalmanns- Larczhausen, D8-6567 Hilgertahausen (IDE)- (72) Erfinder/Anmeider (mur für US): BREM, Contried ( Thalmannsch 25, Larczhausen, D-86567 Hilger (IDE).  (74) Anwalt: STRAUS, Alexander; Kirischner & Kurig.	25.05.9 er US dorf 2 [DE/DE rtshaus	BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, CW, HU, DL, ILS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LB, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MN, CN, KZ, JP, TR, OR, RU, SD, SS, SS, SS, SS, SS, SS, SS, SS, SS

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR OBTAINING AND INITIALLY PREPARING TISSUE SAMPLES FOR MOLECULA GENETIC DIAGNOSIS

(\$4) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR GEWINNUNG UND ERST-AUFBEREITUNG VON GEWE-BEPROBEN FÜR DIE MOLEKULARGENETISCHE DIAGNOSTIK

#### (57) Abstract

The invention relates to a device and a method for taking and initially preparing issue, bodd or other samples with cells or cell components containing a core or DNA for noticeular genetic tests. The inventive device for obtaining and initially preparing samples containing cells with DNA comprises a sample container and means for obtaining the samples, said means being inserted in the sample container and means and side walls and it closed with mice said container. The sample container has a bottom and side walls into all closed with obtaining means in an area of the container side walls distant from the bottom, whereby means for proceding against enzymes thaving a catabolic effect on the DNA are provided in the container, whereby the means for obtaining the sample are embodied in such a way that, once inserted in the sample container, and means are from a stable meaner for the means provided in the sample container and means are fined in a stable meaner to the means provided in the sample container for thing which divides the sample container into a least the force and of the sample container means.



#### (57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erinfung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Einnahnen und Erst-Aufbreitung von Geseberütut oder anderen Probem mit Kerne bzw. DNA-abitgan Zellen oder Zellbenatundeilen für die molekulargeneiste Unterschung. Die erinfungsgemäße Vorrichtung zur Gewinnung und Erst-Aufbreitung von DNA-abitga Zellen enthaltenden Proben unfahre einer Probensunfahrendeilter und feittet zum Gewinnen der Probe, ans nach Gewinnen der Probe in den Probensunfahrendeilter und mittet und eine den Sellen erinfungsten der Sellen erinfungsten streite und seiner siehen leicht und diesen dichtend verschießt, wobei der Probensunfahrenbehälter ein Bodenseil und Seitenwinde aufweits, mit einem leicht durchringstunne Deckel verschiebsen ist und ein einem oden Boden enterfruit legenden Berschied er Behälterschienwinde Mittel zum Schutz vor DNA abbunchen Enzymen vorgesehn sind, wobei das Mittel um Gewinnen der Proben einem dassen der seine der Sellenseinschaften der Sellenseinschienstellen der Verschiedung der Sellensein der Verschiedung de

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL Ablein SS Station LS Laucht St Streetin

reich aisten aistechan aistechan aistechan aistechan auf-terzegowina doe de de na Faso rien ien as	FR Prac GA Gat GB Ver GE Gec GH Gh GN Gui GR Gr HU Un HU Iris IL Isra IS Isla	reinigses Königreich Argien Inn Inn Inn Inn Inn Inn Inn Inn Inn I	LU LV MC MD MG MK MK	Litaton Laxemburg Lettland Monaco Republik Moldan Madagantar Die chemalige jagoslawische Republik Mazedonien Mali Mongolei Mongolei	SK SN SZ TD TG TJ TM TR TT UA UG	Slowakei Senegal Swasiland Techad Togo Tadachikisten Turkmenistan Türkei Türkidad und Tobago Ukraine
alien widschan en-Herzegowina doe en nn Faso rien ien	GA Gab GB Ver GE Gec GH Gh GN Gui GR Gri HU Ung IE Irla IL Isra IS Isla	oun reinigses Königreich regien una nea noca cochonisad gara nd el	LV MC MD MG MK ML ML	Lettland Monaco Republik Moldau Madagaskar Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien Mali Mougolei	SZ TD TG TJ TM TR TT UA	Swasiland Techad Togo Tadachikistan Turkmenistan Türkei Trinidad und Tohago Ukraine
uidschan en-Herzegowina doe en na Faso riten ien	GB Ver GE Gec GH Ghi GN Gui GR Gri HU Ung IE Iria IL Isra IS Isla	reinigses Königreich Argien Inn Inn Inn Inn Inn Inn Inn Inn Inn I	MC MD MG MK ML MN MR	Monaco Republik Moldan Madagaskar Die ehematige jagoslawische Republik Mazedonien Mali Mongolei	TD TG TJ TM TR TT UA	Tachad Togo Tadachikisten Turkmenisten Turkei Trinidad und Tobago Ukraine
en-Herzegowina dos en na Faso rien ien s	GE Geo GH Ghi GN Gui GR Gri HU Ung IE fria IL Isra IS Isla	orgini nna nnea ochonland gam md	MD MG MK ML MN MN	Republik Moldan Madagaskar Die chemalige jugoslawische Republik Mazedonien Mali Mongolei	TG TJ TM TR TT UA	Togo Tadachikistan Turkenistan Türkei Tinidad und Tobago Ukraine
doe ch na Faso crien ien as	GH Ghi GN Gui GR Gri HU Ung IE Iria IL Isra IS Isla	una inea cohenland gam md iel	MG MK ML MN MR	Madagaskar Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien Mali Mongolei	TJ TM TR TT UA	Tadschikisten Turkmenisten Türkei Trinidad und Tobago Ukraine
on na Faso rien ien se	GN Gui GR Gris HU Ung IE Iria IL Isra IS Isla	inea ochonland garn nd iel	MK ML MN MR	Die ehemalige jugoslawische Republik Mezedonien Mali Mongolei	TM TR TT UA	Tadschikisten Turkmenisten Türkei Trinidad und Tobago Ukraine
na Faso rien ien ss	GR Gri HU Ung IE Iria IL Isra IS Isla	ochenland gam nd el	ML MN MR	Republik Mazedonica Mali Mongolei	TR TT UA	Terkei Trinidad und Tobago Ukraine
rien ien as	HU Ung IE Iria IL Isra IS Isla	para nd ci	ML MN MR	Mali Mongolei	TT UA	Trinidad und Tobago Ukraine
ien Is	IE Iria IL Isra IS Isla	ad cl	MN MR	Mongolei	UA	Ukraine
ien Is	IL Isra IS Isla	ci	MR			
15	IS Isla			Mauretanien	uc	
		nd				Uganda
				Malawi	US	Vereinigte Staaten von
	IT Itali	ien .	MX	Mexiko		Amerika
dafrikanische Republik .	JP Japa	en .	NE	Niger	UZ	Usbekistan
•	KE Ker	nia .	NL	Niederlande	VN	Virtnam
	KG Kin	gesistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
1'Ivoire	KP Den	nokratische Volksrepublik	NZ	Neusceland	zw	Zimbabwe
run	Kor	ra .	PL	Polen		
	KR Rep	ublik Korea	PT	Portugal		
	KZ Kas	achstan	RO	Rumbnien		
	LC St.	Lucia	RU	Russische Pöderation		
thland I	LI Lieu	:htenstein	SD	Sudan		
	LK Sri	Lanks	SE	Schweden		
	LR Libe	cria	SG	Sinemur		
	chische Republik thland nark	KR Reg KZ Kas chische Republik LC St. thland LI Lie tark LK Sri	KR Republik Koea KZ Kaachtram chische Republik LC St. Lucia thland LI Licehteustein tark LK Sri Lantz	KR   Republik Konea   PT	KR   Republik Korea   PT   Peringul	KR   Republik Kotea   PT   Portugal

### Vorrichtung und Verfahren zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von Gewebeproben für die molekulargenetische Diagnostik

5

10

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von Gewebe/Blut oder anderen Proben mit Kern- bzw. DNA-haltigen Zellen oder Zellbestandten für die molekulargenetische Untersuchung. Die Erfindung betrifft weiter die Verwendung der hier beschriebenen Vorrichtung zur Typisierung von Tiermonulationen.

Für diverse Forschungs- und Anwendungsprogramme ist die Gewinnung einer großen Anzahl von Gewebe- bzw. DNA-Proben notwendig. Dabei müssen unter bestimmten Umständen Informationen über ganzen (Nutztier)-Populationen oder regionale bzw. speziell charakterisierte Tierbestände (z.B. biologisch dynamische Tierproduktion) gewonnen werden.

So wurde beispielsweise ausgelöst durch den BSE-Skandal und die damit verbundenen Probleme die Herkunft von Fleisch und Produkten aus unbelasteten Betrieben zuzusichern eine EU-weite Kennzeichnungspflicht von Nutztieren eingeführt, wobei die Tiere bei oder kurz nach ihrer Geburt zur deren Kennzeichnung mit Ohrmarken versehen werden. Diese sind mit einer individuellen Nummer versehen, die das Nutztier kennzeichnen. So läßt sich durch spätere Überprüfung der Nummer beispielsweise im Schlachthoft feststellen. aus welchen Betrieb das Tier stammt.

25

Diese Ohrmarken sind jedoch nicht fälschungssicher und können durch Manipulation ausgetauscht werden, so daß das eingeführte System der Kennzeichnung umgangen werden kann. Vom Verbraucher oder Zwischenhändler kann somit nicht sichergestellt werden, ob das Tier wirklich aus dem angeeebenen Betrieb stammt.

30

Es wäre daher wünschenswert über ein einfaches analytisches Verfahren zu verfügen, das eine unabhängige Überprüfung der von Produzenten, Verarbeitern und Vermarktern gemachten Angaben ermöglicht.

35 Jedes Subjekt kann bekanntermaßen durch Untersuchung bestimmter DNA-Varianten als Individuum identifiziert werden ("genetischer Fingerabdruck"). In der Forensik, beispielsweise der Bestimmung eines Straftäters, und bei der Abstammungssicherung von

2

Zuchttieren werden diese innovativen molekulargenetischen Techniken bereits analytisch genutzt, wobei normalerweise eine Probe des Subjekts über Blutentnahme durch den Arzt gewonnen und der Analyse zugeführt wird. Dies ist jedoch für größere Populationen, insbesondere bei großen Tierbeständen zu aufwendig und hinsichtlich der damit einhergehenden Kosten vom ökonomischen Standpunkt nicht durchführbar.

Mittels moderner Nachweisverfahren (PCR, Sequenzierung, usw) läßt sich gegenwärtig bereits an kleinsten Gewebeproben nachweisen, ob diese von einem bestimmten Individuum stammen oder nicht. Der Nachweis kann relativ einfach mit einer Zuverlässigkeit von über 99,9% geführt werden.

Der personelle und finanzielle Aufwand für eine gezielt und separat durchgeführte Gewinnung, Asservierung, Katalogisierung, Archivierung und Analyse solcher Probenmengen ist iedoch zur Zeit enorm.

15

10

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht daher darin eine Vorrichtung bereitzustellen, mit der eine Gewinnung von DNA-haltigen Proben aus einem Subjekt einfach und kostengünstig durchgeführt werden kann.

0 Eine weitere Aufgabe der Erfindung besteht darin ein Verfahren zu liefern, mit dem Gewebe- und/oder Blutproben aus Subjekten einfach gewonnen und einem analytischen Verfahren zuseführt werden können.

Diese Aufgabe wird gelöst durch eine Vorrichtung zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung 
25 von DNA-haltige Zellen enthaltenden Proben, die einen Probenaufnahmebehälter und 
Mittel zum Gewinnen der Probe umfaßt, das nach Gewinnen der Probe in den 
Probenaufnahmebehälter eingeführt wird und diesen dichtend verschließt, wobei der 
Probenaufnahmebehälter ein Bodenteil und Seitenwände aufweist, mit einem leicht 
durchdringbaren Deckel verschlossen ist und in einem von dem Boden entfernt liegenden 
30 Bereich der Behälterseitenwände Mittel zum Fixieren des eingeführten Probengewinnungsmittels besitzt, wobei in dem Behälter Mittel zum Schutz vor DNA abbauenden 
Enzymen vorgesehen sind, wobei das Mittel zum Gewinnen der Probe derart ausgestaltet 
ist, daß es beim Einführen in den Probenaufnahmebehälter mit den am 
Probenaufnahmebehälter vorgesehenen Mittel zum Fixieren ortsstabil befestigt wird und 
die Probenaufnahmebehälter in mindestens einen Probenaum einteilt, der durch den 
Boden und die Seitenwände des Probenaufnahmebehälters und das vordere Ende des 
Probengewinnungsmittels begrenzt wird.

3

Die vorstehende Aufgabe wird weiter durch ein Verfahren gelöst, bei dem unter Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit dem vorderen Ende des Probengewinnungsmittels eine geeignete Probe gewonnen und dieses in den Probenaufsahmebehälter eingeführt wird. so daß ein durch den Boden und die Seitenwände des Probenaufnahmebehälters und dem vorderen Teil des Probengewinnungsmittels begrenzter Probenraum gebildet wird, der gegenüber der Umgebung dicht abgeschlossen ist

10 Die Erfindung wird nun anhand der beiliegenden Zeichnungen erläutert, in denen:

Fig. 1 einen Querschnitt einer Ausführungsform des Probenaufnahmebehälters 1 zeigt, in dem an dessen Boden 2 ein Vorsprung 8 ausgebildet ist. Das Probengewinnungsmittel 4 befindet sich in dem Probenaufnahmebehälter 1 und verschließt diesen dichtend. An der 15 dem Probenraum 6,6a abgewandten Seite des Probengewinnungsmittels 4 ist eine Vertiefung 12 zur Aufnahme eines Stiftes ausgebildet.

Fig. 2 einen Querschnitt einer Anordnung Dormplatte 10 mit Dorn 10a, Lochplatte 11 mit einem mit einer Lasche 9 ausgebildeten Probenaufnahmebehälter 1 zeigt, der mit dem 20 Probengewinnungsmittel 4 verschlossen ist, wie sie sich nach Anbringen einer Ohrmarke 10.11 und gleichzeitiger Gewinnung einer Probe darstellt.

Fig. 3 eine Seitenansicht einer aus einer Dormplatte 10 und einer Lochplatte 11 bestehenden Ohrmarke 10,11 und eines mit einer Lasche 9 versehenen Probenaufnahmebehälters 1 vor Zusammenführung durch eine geeignete Vorrichtung darstellt.

Fig. 4 schematisch eine DNA-Individual-Typisierung beim Rind zeigt.

25

Die Erfindung wird nun anhand bevorzugter Ausführungsformen unter Bezugnahme auf die Zeichnungen ausführlich erläutert.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung enthält einen Probenaufnahmebehälter 1 und ein Probengewinnungsmittel 2.

Der Probenaufnahmebehälter 1 weist einen Boden 2 und Seitenwände 3 auf und ist mit einem leicht durchdringbaren Deckel, wie einer Folie oder einer Membran verschlossen.

4

Der Probenaufnahmebehälter 1 kann selbst durch weitere Membranen unterteilt werden, so daß zwei oder mehr Komponenten im Probenaufnahmebehälter 1 bis zur Anwendung voneinander getrennt vorliegen und erst durch das Einbringen des Probengewinnungsmittels 4 in den Behälter 1 miteinander und mit der Probe in Kontakt kommen. Der Probenaufnahmebehälter 1 kann ferner durch eine Trennwand, wie einen sich über den gesamten Durchmesser des Bodens 2 erstreckenden Vorsprungs 8 in mindestens zwei Bereiche unterteilt sein, so daß bei einer Probengewinnung mindestens zwei voneinander getrennte Proben gewonnen werden können.

- In einer bevorzugten Ausführungsform nimmt der Probenaufnahmebehälter 1 mindestens das vordere Ende des Probengewinnungsmittels 4 auf. Er kann im Bodenbereich 2 so ausgebildet sein, daß ein gegebenenfalls eine Kegelform aufweisender Vorsprung 8 vorsprunges vorsprunges 1 vorsprunges 2 entsprechend angepaßt ist. Dies führt dazu, daß beim Einführen des Probengewinnungsmittel 4 zur Aufnahme des Vorsprunges 8 entsprechend angepaßt ist. Dies führt dazu, daß beim Einführen des Probengewinnungsmittel 4 in den Probenaufnahmebehälters 1 die Probe durch das Zusammenpressen der beiden Teile sehr stark zerquetseht und zerkleinert und in den durch den Boden 2 und die Seitenwände 3 des Probenaufnahmebehälters 1 sowie dem vorderen Bereich 7 des Probengewinnungsmittels 4 begrenzten Probenzum 6, 6a gedrückt wird.
- 20 Der Probenaufnahmebehälter 1 kann weiter eine Haltevorrichtung 9, wie ein flach angesetztes Teil, beispielsweise eine Lasche mit einem Loch, aufweisen, um diesen entprechend zu befestigen. So kann beispielsweise bei Verwendung einer Zange zum Anbringen der Ohrmarke 10,11 die Lasche an dieser befestigt werden. Die Lasche eignet sich weiter zur Aufnahme der Identifikationsnummer, die mit der der Ohrmarke 25 übereinstimmt. Die Beschriftung kann von Hand erfolgen, in dafür vorgesehene vorgeformte Rillen eingetragen werden oder durch Vorbeschriftung, z.B. Einprägung, oder mit einem Drucker gleichzeitig und identisch mit dem Anbringen der Identifikationsnummer auf einem Plattenteil der Ohrmarke 10,11 erfolgen.
- 30 Der Probenaufnahmebehälter 1 kann gegebenenfalls (z.B. für eine Weiterbearbeitung der Proben von Hand) auch so ausgebildet sein, daß der Bereich des Probenaufnahmebehälters 1, der nach Verschließen mit dem Probengewinnungsmittel 4 den Probenraum 6,6a definiert, mit dem Korpus des Probenaufnahmebehälters 1 durch ein Gewinde verbunden ist und daher leicht abgeschraubt werden kann, so daß ein leichter Zugang zu der Probe ermöglicht wird.

5

In einer bevorzugten Ausführungsform wird der Probenaufnahmebehälter 1 mit dem Probengewinnungsmittel 4 derart verschlössen, daß ein Öffnen des gebildeten Probenraums 6,6a öhne Zerstörung der Vorrichtung nicht möglich ist. Dadurch kann sichergestellt werden, daß eine Manipulation der einmal gewonnenen Probe, ohne daß es bemerkt wird, nicht erfolgen kann.

In dem Probenaufnahmebehälter 1 befindet sich Material zur Inaktivierung des Proteinanteils der Gewebeprobe und zur Stabilisierung der DNA.

- 10 Das Material zur Inaktivierung von Proteinen (Enzyme, DNAsen usw.) der Gewebeprobe und zur Stabilisierung der DNA kann beispielsweise ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus:
  - Proteinase K (z.B. zur Stabilisierung während der Lagerdauer lyophilisert) und (getrennt eingefülltem) Puffer zum Verdau von Proteinen;
  - starke Lauge;
  - Molekularsieb (z.B. E. Merck 0,2 nm Nr. 1.05704.0250, K 230045904 624, Wasseraufnahmevermögen > 20%), das extrem hygroskopisch ist und bei Kontakt mit der Gewebeprobe diese austrocknet (und erwärmt) und damit inaktiviert. Zum Schutz des Molekularsiebes vor unerwünschter Aufnahme von Feuchtigkeit aus der Luft kann es z.B. mit dem Edelgas Argon überschichtet und mit einer Folie abgedeckt werden;
  - anderen Bestandteilen, die die Inaktivierung des Proteinanteils und die Stabilisierung der DNA unterstitzen.

25

15

20

Das Material wird so formuliert, daß es für einen langen Zeitraum, beispielsweise bis zu 1 Jahr oder länger aktiv bleibt und nach dem Einbringen der Probe zumindest für mehrere Monate bis zu einem Jahr eine hinreichende Integrität der DNA für eine analytische Untersuchung gewährt.

30

Das Probengewinnungsmittel 4 kann jede Form annehmen, mit der die Probe gewonnen und in den Probenaufnahmebehälter 1 eingeführt werden kann, wobei das Probengewinnungsmittel 4 den Probenaufnahmebehälter 1 nach Einführen dichtend verschließt. Dies schließt die Form von Zylindern, Kegeln, usw. ein.

35

In einer bevorzugten Ausführungsform besteht das Probengewinnungsmittel 4 aus zwei Teilen, die vor der Benutzung (lösbar) miteinander verbunden sind und sich beim

6

Benutzen voneinander trennen. Dies kann beispielsweise über eine als Sollbruchstelle ausgelegte schmale Kunststoffbrücke realisiert werden. Das Probengewinnungsmittel 4 kann massiv sein oder an dessen hinteren Ende eine Vorrichtung zur Aufnahme eines Stiftes, beispielsweise einen zentrischen Hohlraum 12, aufweisen, in den beim Benutzen 5 ein Stahlstift einer Zange zur Stablisierung eingeführt wird.

Das Probengewinnungsmittel 4 erfüllt mehrere Aufgaben. Mit ihm wird die Probe gewonnen, beispielsweise durch einfaches Eintauchen in Körperfüssigkeiten, wie Blut, Lymphe oder Urin oder Abkratzen und Herausstechen von Gewebe von bzw. aus dem Subiekt.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung beispielsweise Gewebe aus der Haut eines Menschen entnommen, beispielsweise ein Gewebe mit Verdacht auf Melanom.

15

10

Weiter kann mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung das Ohr eines Subjekts, insbesondere das eines Tiers durchstochen werden, wobei das vordere Ende des Probengewinnungsmittel 4 scharfkantig ausgebildet sein kann, so daß beim Durchdringen des Ohres eine kleine Gewebeprobe ausgestanz//gequetscht wird.

20

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das Probengewinnungsmittel zur Gewinnung der Probe mit einer geeigneten Vorrichtung, wie einer Ohrzange, gleichzeitig mit einer Ohrzanke durch das Ohr eines Subjekts gedrückt, so daß das Anbringen der Ohrmarke und die Gewinnung der Probe in einem Arbeitsgang vonstatten gebtt.

25

Die für die Markierung verwendete Ohrmarke besteht in der Regel aus zwei Teilen, einer den Dorn tragenden Platte 10 (Dornplatte) und einer Lochplatte 11, die etwa die gleiche Größe aufweist wie die Dornplatte 10 oder auch aus einer kleineren Scheibe bestehen kann, die nur groß genug sein muß um ein Herausrutschen des Dorns 10a aus dem Ohr 20 zu verhindern. Beide Teile werden aus lebensmitteltauglichen und gewebeverträglichem Kunststoff (z.B. Polyurethan - Desmopan 795 U von Bayer) oder zum Teil aus Metall (z.B. Edelstahl). Messing, Bronze o.ā.) gefertigt.

Zum Einziehen der Ohrmarken 10,11 kann eine handelsübliche Ohrmarkenzange verwendet werden. Die meisten für diesen Zweck verfügbaren Zangen können gegebenenfalls durch ein kleines Zusatzteil sehr einfach so umgerüstet werden, so daß der Probenaufnahmebehälter 1 nach dem Einziehen der Ohrmarke 10,11 an der Zange hängen bleibt

7

und dadurch leicht aufgenommen werden kann. Das Zusatzteil ist beispielsweise eine kleine Noppe, über die die Lochöffmung der Lasche 9 mit dem Probenaufnahmebehälter 1 gezogen wird. Nach dem Einziehen der Ohrmarke 10,11 ins Ohr und dem gegebenenfalls ruckartigen Herausziehen der Ohrmarke 10,11 aus den Halterungen der Zange hält die Noppe die Lasche 9 mit dem Probenaufnahmebehälter 1 an der Zange fest. Anschließend kann die Lasche sehr leicht über die Noppe gezogen und damit der Probenaufnahmebehälter 1 eingesammelt werden.

Das Probengewinnungsmittel 4 verschließt den Probenaufnahmebehälter 1 durch

10 Einführen dichtend und wird durch Befestigungsmittel 5 ortsstabil fixiert, so daß ein Austreten von Probenmaterial und ein Eindringen von Fremdmaterial verhindert wird.

Der Probenaufnahmebehälter 1 sowie das Probengewinnungsmittel 4 können aus jedem geeigneten Material gefertigt sein, wie beispielsweise aus Metall oder aus ggf. glasfaser15 versärktem Kunststoff. Ist das Probengewinnungsmittel 4 aus Kunststoff gefertigt, so kann kann es beim Einziehen ins Ohr durch einen an der verwendeten Zange befindlichen innenliegenden Metallstift verstärkt werden.

Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung wird ermöglicht, die Probenentnahme bei Tieren gleichzeitig mit der üblicherweise ohnehin durchgeführten Identifikationsmarkierung mit Ohrmarken 10,11 ohne wesentlichen zusätzlichen Aufwand durchzuführen. Die daraus resultierenden Einsparungen sind sehr hoch.

20

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Vorrichtung gegenüber konventionellen Probenentnahme-Behältern ist die an den Probenaufnahmebehälter anschließende Haltevorrichtung 9, die die Form einer flachen Lasche annehmen, und die zur Beschriftung/Kennzeichnung der Probe verwendet werden kann. Üblicherweise muß die Beschriftung auf der meist runden Oberflächen von meist zylindrischen Gefäßen (z.B. Eppendorf Tubes) mehr oder weniger mühsam und eventuell schwer leserlich von Hand angebracht werden. Ein Einlesen dieser Nummern oder Daten und eine automatisierte Finnahme ist dabei schwer zu realisieren.

Das erfindungsgemäße System ist insbesondere dann von Vorteil, wenn Proben aus Material gewonnen werden müssen, das sich noch in einem Verbund befindet, so daß eine Probe normalerweise mit einem Gerät (Messer, scharfer Löffel, Skalpell etc.) entnommen werden muß. Bei Verwendung von wiederverwendbaren Geräten ist die Kontaminationsgefahr sehr groß, da bei der sehr sensitiven analytischen Maßnahmen, wie

8

PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) schon einzelne Zellen zu Kontaminationen und damit zu falsch positiven Ergebnissen führen können. Bei Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung kommen ausschießlich solche Teile mit dem Probenmaterial in Berührung, die nur einmal verwendet werden.

5

Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann auch dazu verwendet werden um beispielsweise flüssige Proben (Blut, Harn, Speichel o.ä.) zuverlässig und sicher aufzunehmen und aufzuarbeiten. In diesem Fall wird die Flüssigkeit entweder auf die Öffnung des Probenaufnahmebehälters 1 oder auf den vorderen Bereich des Probengewinnungsmittels 10 4 aufgebracht und anschließend beispielsweise mit einer geeigneten Vorrichtung, wie einer Zange, in den Probenaufnahmebehälter 1 eingepreßt. Auch Proben von Oberflächen (Haut, Schleimhaut etc.) können mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung sauber, zuverlässig und mit sicherer Identifikation gewonnen werden, indem der vordere Bereich des Probengewinnungsmittels 4 als "scharfer Löffel" verwendet und kurz über die 15 Oberfläche gezogen/geschabt wird.

Ein wesentlicher Vorteil der Erfindung besteht darin, daß die Probenaufnahmebehälter 1 vor dem Verteilen an die Nutzer bzw. Tierbesitzer gleichzeitig mit den Ohrmarken (Dornplatte 10, Lochplatte 11) beschriftet werden können und dadurch unverwechselbar die selbe Nummerierung tragen. Die Beschriftung kann z.B. mit einem Drucker erfolgen, mit dem im Falle einer Kunststoffohrmarke ein (schwarzer) Mastermix aufgetragen wird, der sich so stabil mit dem Kunststoff verbindet, daß er bei üblichem Gebrauch nicht verwischt oder entfernt werden kann. Weiter können die entsprechenden Teile eine individuelle Zahl-Prägung aufweisen.

25

30

20

Die mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung gewonnenen Proben werden dann an eine zentrale Sammestelle gebracht und dort analysiert. Das Sammeln der Proben-aufnahmebehälter 1 kann ohne besondere Vorgaben hinsichtlich Temperatur und Dauer des Transportes erfolgen. Die Probenaufnahmebehälter 1 können problem- und gefahrlos ner Post. Kurier oder Sammelaktion ins Labor oder Archiv transportiert werden.

Die Aufarbeitung der Proben im Labor - Entnahme eines Aliquots, Analyse-Reaktion und Auswertung - kann vollautomatisch mit Roboter-gesteuerten Systemen erfolgen. Die Identifikationsnummer der Proben wird dabei über ein Lesegerät erfaßt und weiterverarbeitet. Durch die Vermeidung einer Dateneingabe per Hand kann die Fehlerquote vernachläßigbar gering gehalten werden. 10

15

20

30

Zur Bearbeitung bzw. Analyse der DNA aus den mit den erfindungsgemäßen Vorrichtungen gesammelten Proben werden die Probenaufnahmebehälter 1 so in ein Förderband eingelegt, daß ein Lesegerät die Identität der Probe aufnehmen kann. Anschließend wird eine Kanilie durch den Boden des Probenaums 6,6a eingestochen, Flüssigkeit zur Aufnahme der Probe injiziert und anschließend ein Aliquut entmommen. Die Einstichstelle kann anschließend wieder versiegelt werden, so daß der Probenaufnahmebehälter archiviert werden kann. Wurde der Probenarum 6,6a bereits vorab in geeigneter Weise unterteilt so befinden sich in der erfindungsgemäßen Vorrichtung noch weitere, zur Analyse einsetzbare Proben.

Die DNA-Isolierung kann durch die Verwendung eines Pipettier-Roboters (beispielsweise Biomec 2000, Beckman) und der DNA-Reinigung mittels Silikon-Partikeln (z.B. InstaGene\* Matrix, BIO-RAD) automatisiert werden. Die Analyse-Reaktionen mit diesen Proben können ebenfalls automatisiert erstellt werden.

Mit dem hier beschriebenen System der einfachen Gewinnung von Proben und automatisierter Analyse lassen sich folgende Vorteile erzielen:

- Fälschungssicherer Herkunfts- und Identitätsnachweis für alle Rinder und Fleisch von diesen Rindern in allen Stufen der Vermarktung und Verarbeitung bis hin zum Verzehr und damit der Nachweis der Herkunft aus BSE-freien Herkünften
- Ermöglichung der Kontrolle und damit Stabilisierung gezielter Vermarktungsprogramme wie z.B. von Tieren aus der Bioproduktion aus der Haltung in Nationalparks oder mit speziellen Gütezeichen
- Überprüfung und Überwachung der Transportwege, -zeiten und -entfernungen für alle Rindertransporte
  - Effiziente Grenzkontrollen und Nachverfolgung inländischer Rinder im EU-Raum und bei internationalen Exporten
  - Unverwechselbares Kennzeichen aller verkauften Zuchtrinder mit jederzeit nachweisbarer Identität z.B. bei Auktionen, Ausstellungen etc.
  - Lückenloser Abstammungsnachweis für alle geborenen Rinder und Aufdeckung von Fehl- oder Falschbelegungen
  - Unzweifelhafte forensische Nachweise (auch noch bei verzehrtem Rindfleisch aus Mageninhalt in der Gerichtsmedizin)
  - Unzweifelhafte Überwachung von Keulungsmaßnahmen und bei Seuchensanierungen
    - Feststellung der Beimengungen von Rindfleisch in allen zur Untersuchung vorgelegten (verarbeiteten) Lebensmitteln, einschließlich Heimtierfutter

- Aufdeckung der Identität von Produzenten von Schlachtkörpern, in denen im Rahmen von Stichprobenuntersuchungen Behandlungen mit unerlaubten Hormonen oder Wachstumsförderern vorgenommen worden sind
- Herkunftsnachweis bei anderen Produkten aus der Rinderhaltung wie Fellen, Knochen, Hörnern, Klauen, Organpräparationen, Blut etc.
- Nachweis und Kontrolle der Tier- und Bestandsherkunft bei direkt vermarkteter Milch und Milchprodukten
- · Exakte Erfassung aller Rinderbestände und Vermarktungswege
- Proben f
  ür detaillierteste Analysen von DNA-Polymorphismen, genetische Distanz-
- messungen und genetische Screening-Programme würden zur Verfügung stehen
- Optimierung von Zuchtprogrammen
  - · Genetische Distanzmessungen

10

15

30

- Untersuchung der genealogischen und zuchthistorischen Entwicklung von Tierrassen
- Analysen im Rahmen Marker-gestützter-Selektionsprogramme (MAS)
- exakte Aussagen über die Präsenz und Häufigkeit bestimmter Erbfehlerallele

Aus forensischer Sicht hat die hier beschriebene Vorrichtung und das hier beschriebene Verfahren weiter den Vorteil, daß eine einmal eingepackte Probe nicht mehr verändert (ausgetauscht, verfälscht) werden kann, ohne daß die dazu notwendige Manipulation des 20 Probenatinahmehehälters erkennbar sein würde.

Durch Sammeln und Katalogisieren der gewonnenen Proben wird weiter eine Individualtypisierung, ein Herkunftsnachweis, Erbfehlers-Sreening, Populationsanalysen, Mutationsdetektion, sowie Lebensmittel-Screening, Diagnostik von Krankheitserregern,

Transgenitätsdiagnostik, Überwachung der Hygienesituation in Betrieben der Lebensmittelver- und bearbeitung ussw, ohne großen Aufwand ermöglicht.

Mit dem hier beschriebenen System wird ein Nachweis über die genetische Information, die nicht nur alle Tiere sondern auch die aus Tieren erstellten Produkte bis zum Verzehr enthalten, möglich. Mit der hier beschriebenen Vorrichtung können die normalerweise damit einhergehenden Kosten um ein Vielfaches gesenkt werden.

So kann sogar in intensiv bearbeiteten Lebensmitteln tierischen Ursprungs (Brühwürste, Bratenfleisch, Leberkäs, Schnitzel etc.) noch spezies- und individualspezifische DNA nachgewiesen werden. Dadurch wird ermöglicht, Kontaminationen von Lebensmitteln mit fremden Fleischanteilen nachzuweisen. Natürlich ist es mit Hilfe dieser Methoden auch möglich, zweifelsfrei zu beweisen, daß bestimmte Lebensmittel - wie angegeben -

von einem bestimmten Tier stammen, wenn von dem lebenden Tier im Herkunftsbetrieb eine geeignete (Erst)Probe gezogen worden ist (Abb. 3).

Dazu muß von jedem geborenen Nutztier eine Ohrgewebeprobe für die DNA-5 Typisierung gewonnen und an das Typisierungs-Zentrum übermittelt werden. Dort werden mittels (automatisierter) PCR DNA-Fingerprints mit Mikrosatelliten-Primern erstellt und so ein unverwechselbares Muster für jedes einzelne Tier erfaßt.

Diese Daten werden in einer Zentraldatei gespeichert und sind erschließbar über:

10

15

- den bei einer Kontrolluntersuchung aufgetretenen Fingerprint, d.h. bei Einsendung einer "Zweitprobe" kann nach der DNA-Typisierung durch Vergleich mit den Fingerprints aus der "Erstuntersuchung" das dazugehörige Tier herausgefunden werden. Dieses Ergebnis kann normalerweise innerhalb eines Tages bereitgestellt werden. In Extremfällen z.B. bei Tiertransporten oder Grenzkontrollen kann innerhalb von drei Stunden eine Express-Auskunft erteilt werden.
- die Tiernummer, d.h. von jedem erfaßten Tier sind der DNA-Fingerprint und alle anderen Daten abrufbar
- den Tierbesitzer, d.h. alle von einem Besitzer bzw. einer Herde vermarkteten Tiere
   können gepoolt werden
  - die Eltern des Tieres, d.h. nach einer mehrjährigen Erfassung aller geborenen Rinder kann über die Datei automatisch die Elternschaft und auch die Zahl der Nachkommen pro Eltern überprüft werden.
- 25 Eine Individualtypisierung von Nutztieren einer ganzen Population ist ein Novum. Jeder Konsument, Gast, Kunde, Händler, Metzger, Verarbeiter, Besitzer oder Kontrolleur usw. könnte die Identität und damit Herkunft eines Tieres oder Tierproduktes überprüfen lassen (Fig. 4). Notwendig für diese Überprüfung ist lediglich die Entnahme einer Zweit-Probe aus heispielsweise dem Schlachthof, dem Supermarkt und sogar aus dem bereits 30 zubereiteten Mahl (beispielsweise einem im Restaurant aufgetischten Wiener Schnitzel oder Tafelspitz).

Bei lebenden Tieren z.B. bei der Überwachung der Tiergerechtheit von Transporten (Entfermung) wären ebenfalls eine Typisierung unzweiselhaft zu ermöglichen. Dieses 35 Maximum an Sicherheit bei der Überprüfung wird automatisch zur Folge haben, daß bei ausreichend großer Überprüfungsfrequenz Betrugsversuche wegen der Furcht vor einem zuverlässigen und gerichtlich einwandfreien Nachweis- bzw. Aufdeckungsmöglichkeit vorah bereits auf ein Minimum reduziert werden.

Bei allen zukünftig möglicherweise noch auftretenden Anordnungen der Überwachung von bestimmten Gruppen von Tieren oder Beständen aufgrund von Risikoabwendungen, Seuchenüberwachung oder Überprüfung von unerlaubten Rückständen (Hormone, Wachstumsbeschleuiniger etc.) in Tierkörpern könnte anhand der dann bereits vorhandenen DNA-Daten ad hoc vorgegangen werden.

Wenn diese Individualtypisierung mit dem hier beschriebenen System in einem Land konsequent praktiziert wird, wird man bei auftretenden Problemen (z.B. BSE-Verdacht bei einem Tier, Ausbruch der Schweinepest in einem Betrieb etc.) jederzeit in der Lage sein, jeweils unmittelbar, d.h. noch am selben Tag, zu reagieren und damit für die Verbraucher einen einzigartigen Schutz oder für die Überwachung eine einzigartige 15 Kontrollmöglichkeit zu bieten.

Insbesondere könnte z.B. durch die Individualtypisierung auch lückenlos und zweifelsfrei bewiesen werden, daß Tiere und Produkte aus alternativer Produktion wirklich dorther stammen. Das bedeutet, daß jeder Kunde auch noch nach weitläufigsten Transporten und Vermarkungen des Fleisches durch Einsendung von Proben (Zweitprobe) eine Überprüfung der das Fleisch begleitenden Informationen veranlassen könnte.

Die Erfindung wird nun anhand von Beispielen näher erläutert, die nicht zur Begrenzung der in den Ansprüchen niedergelegten Erfindung gedacht sind.

Beispiel 1

25

Individualtypisierung beim Rind

- Ein Rind wurde mit herkömmlichen Ohrmarken gekennzeichnet. Auf den Dorn der Dornplatte wurde das Probengewinnungsmittel aufgesetzt, das die Form eines zu dem vorderen Ende hin konisch zulaufenden Kegels mit einem zylindirschen Basisteil und einer Vertiefung im Basisteil zur Aufnahme des Dorns der Dornplatte ausgebildet war.
- 35 An der Zange wurde zudem der mit einer Lasche einstückig ausgebildete Probenaufnahmebehälter unter der für die Lochplatte vorgesehenen Position derart angeordnet, daß

13

der aus einer Kunststoffolie bestehende Deckel des Probenaufnahmebehälter mit dem Loch der Lochplatte ausgerichtet war.

Die Lasche wies an einer von dem Ort der Probenaufnahmebehälter entfernt liegenden 5 Stelle ein Durchgangsloch zur ortststabilen Befestigung der Lasche an der Zange auf.

Durch Hindurchdrücken des mit dem Probengewinnungsmittel versehenen Dorns der Dornplatte durch das Ohr des Rindes wurde die dabei aus dem Ohr ausgestanzte Gewebeprobe in dem Probenaufnahmebehälter gedrückt. Das Probengewinnungsmittel wurde durch auf den Innewnänden des im Probenaufnahmebehälter vorgesehenen Vorsprüngen nach dem Einführen fixiert, wobei der gebildete Probenraum dichtend verschlossen wurde.

In dem Probenaufnahmebehälter befand sich ein Molekularsieb (Merck 0,2 nm Nr.
 1.05704.0250), das die DNA der aufgenommenen Gewebeprobe vor einem Abbau schützt.

Mit dem in dem Probenaufnahmebehälter vorhandenen genetischen Material konnte nach einem halben Jahr Lagerung problemlos DNA-Footprints, sowie PCR-Analysen auf bekannte Gene durchgeführt werden.

### Beispiel 2

20

Screen-out von funktionellen Mutanten zur Zucht spezieller Linien (z.B. von 25 1.3GalαGal3 negativen Schweinen für die Xenotransplantation

In einer genügend großen Population beinhaltet jedes im Genom vorhandene Gen, bedingt durch die bekannte natürliche Mutationsrate, bei einzelnen Individuen nicht nur verschiedene Silent-Mutationen, sondern mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auch 30 Mutationen, die eine Inaktivität des Allels zur Folge haben. In dern Mehrzahl dieser Fälle handelt es sich dabei nicht um dominante sondern um rezessive Mutationen. Gemäß Hardy-Weinberg-Regel ist die überwiegende Zahl dieser mutationsbedingten Veränderungen im Genotyp von heterozygoten Individuen maskiert.

35 Entscheidend ist, durch geeignete molekulargenetische Analysen des entsprechenden Genortes in den vorhandenen Schweine-Populationen in einem Screening-Verfahren ein (einziges) heterozygotes Anlageträgertier, das eine inaktivierende Mutation enthält, zu

14

entdecken. Mit diesem Tier kann dann eine homozygot negative Linie aufgebaut werden, die den gleichen gewünschten und benötigten Gendefekt aufweisen würde, wie eine durch Gen-Knock-out generierte Linie. Sie würde dieser in nichts nachstehen.

- 5 Die vorgeschlagene Vorgehensweise entspricht gewissermaßen dem Screenen einer Stammzellinie nach Rekombination mit einem geeigneten Konstrukt, das keinen selektiven Marker enthält. Der Unterschied ist folgender: Alle Zellen einer Stammzellinie haben den gleichen Genotyp mit Ausnahme derjenigen, die nach dem einmaligen Mutationsereignis eine Veränderung bzw. Rekombination aufweisen. Beim Screenen von Schweinepopulationen sind alle analysierten Genotypen verschieden. Sie sind nicht gezielt mutagenisiert worden, tragen aber Mutationen, die sich im Laufe der Evolution und züchterischen Bearbeitung angehäuft haben (soweit sie im heterozygoten Zustand keinem negativen selektiven Druck ausgesetzt waren).
- Es ist bekannt, daß es quantitative Unterschiede bei der 1.3GalαGal3 Expression gibt. Da die Mutationsanalyse darauf gerichtet ist, in den diversen Populationen schon vorhandene Mutationen zu finden, werden Zuchttiere untersucht. Vernachlässigt man Neumutationen, dann können Mastschweine nur Mutationen tragen, die bei den Zuchteltern schon vorhanden sind. Für die praktische Durchführung ist die Asservierung und Sammlung der Gewebeproben mit dem Typi-Fix-System ein entscheidender Faktor für den Erfolg bzw. eine finanziell machbare Realsierung. Bei der Analyse zur Suche nach Mutationsträgern muß davon ausgegangen werden, daß möglicherweise bis zu 100.000 Genotypen untersucht werden müssen, um potentielle Tiere mit einer 1.3GalaGal Defizienz zu finden. Für das im Prinzip sehr aufwendige Sammeln der Individualroben von 100.000 Schweinen ist das erfindungsgemäße System das Verfahren der Wahl. Die Proben brauchen nur noch (per Post oder durch Sammelaktionen) ins Labor transportiert und dort weiterbearbeitet zu werden.

### Patentansprüche

5

10

1. Vorrichtung zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von DNA-haltige Zellen enthaltenden Proben, umfassend

einen Probenaufnahmebehälter (1) und Mittel zum Gewinnen der Probe (4), das nach Gewinnen der Probe in den Probenaufnahmebehälter eingeführt wird und diesen dichtend verschließt wobei

der Probenaufnahmebehälter (1) ein Bodenteil (2) und Seitenwände (3) aufweist, mit einem leicht durchdringbaren Deckel verschlossen ist und in einem von dem Boden entfernt liegenden Bereich der Behälterseitenwände Mittel (5) zum Fixieren des eingeführten Probengewinnungsmittels besitzt, wobei in dem Behälter Mittel zum Schutz vor DNA abbauenden Enzymen vorgesehen sind,

das Probengewinnungsmittel (4) derart ausgestaltet ist, daß es beim Einführen in den Probenaufnahmebehälter (1) mit den am Probenaufnahmebehälter vorgesehenen Mittel zum Fixieren (5) ortsstabil befestigt wird und den Probenaufnahmebehälter in mindestens einen Probenraum (6, 6a) einteilt, der durch den Boden (2) und die Seitenwände (3) des Probenaufnahmebehälters (1) und das vordere Ende des Probengewinnungsmittels (7) begrenzt wird.

- 2. Vorrichtung nach Anspruch 1,
- wobei der der durchdringbare Deckel des Probenaufnahmebehälters eine Folie oder eine wasserundurchlässige Membran ist.
- Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,
  - wobei das Mittel zum Schutz vor DNA-abbauenden Enzymen, Lauge, Proteinase K oder Molekularsieb ist.
  - 4. Vorrichtung nach Anspruch 3,

wobei die Proteinase K von einem geeigneten Puffer durch eine Membran getrennt ist, die beim Einführen des Probengewinnungsmittels zerstört wird, so daß die Proteinase K mit dem Puffer in Kontakt gebracht wird.

35

30

 Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Probengewinnungsmittel (4) sich am vorderen Ende verjüngt.

16

- Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Probengewinnungsmittel (4) am vorderen Ende mindestens eine scharfe Kante aufweist
- 7. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei am Boden (2) des Probenaufnahmebehälters (19 ein in den Behälterinnenraum ragender Vorsprung (8) bereitgestellt wird und das Probengewinnungsmittel (4) an dessen vorderen Ende (7) zur Aufnahme des Vorsprungs angepaßt ist, so daß das von dem Probengewinnungsmittel (4) eingebrachte Probenmaterial zwischen dem Vorsprung (8) und dem Probengewinnungsmittel (4) zerkleinert wird.
- Vorrichtung nach Anspruch 7, wobei der Vorsprung (8) mit den Seitenwänden (3) des Probenaufnahmebehälters (1)
   derart verbunden ist, daß nach Einführen eines entsprechend angepaßten Probengewinnungsmittels (4) der Probenaufnahmebehälter (1) in 2 Probenzäume (6, 6a) unterteilt wird.
  - Vorrichtung nach Anspruch 7 oder 8, wobei der Vorsprung (8) eine Kegelform umfaßt.

5

20

25

30

- 10. Vorrichtung nach Anspruch einem der Ansprüche 7 bis 9, wobei der Vorsprung (8) eine den Probenaufnahmebehälter in 2 Bereiche unterteilende Wand ist.
- 11. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Probenaufnahmebehälter (1) an einer Haltevorrichtung (9)befestigt ist.
- 12. Vorrichtung nach Anspruch 10, wobei die Haltevorrichtung (9) eine Lasche ist.
- 13. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Probengewinnungsmittel an dessen hinterem Ende zur Aufnahme eines Stiftes ausgebildet ist.
- 35 14. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Probengewinnungsmittel (1) lösbar mit einer Dormplatte (10) einer Ohrmarke verbunden ist.

WO 99/61882

10

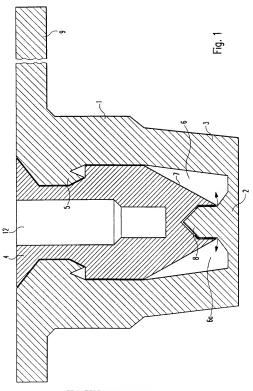
25

17

PCT/EP98/03075

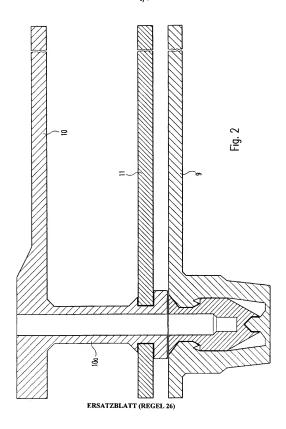
- Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
   wobei der Probenaufnahmebehälter lösbar mit einer Lochplatte (11) einer Ohrmarke
   verhunden ist
  - 16. Vorrichtung nach Anspruch 14 oder 15, wobei die Ohrmarke (10, 11) und der Probenaufnahmebehälter (1) mit der gleichen Identifikationsnummer versehen sind.
- Verfahren zur Gewinnung einer DNA-haltige Zellen enthaltenden Probe aus einem Tier,
   wobei mit dem vorderen Ende (7) des Probengewinnungsmittels (4) eine geeignete Probe gewonnen und dieses in den Probenaufnahmebehälter (1) eingeführt wird, so daß ein durch den Boden (2) und die Seitenwände (3) des Probenaufnahmebehälters (1) und dem vorderen Teil (7) des Probengewinnungsmittels (4) begrenzter Probenzaum (6, 6a) gebildet wird, der gegenüber der Umgebung dicht abgeschlossen ist.
  - 18. Verfahren nach Anspruch 17, wobei das Probengewinnungsmittel (4) einer geeigneten Vorrichtung durch das Ohr eines Tiers gedrückt und in den Probenaufnahmebehälter (1) geführt wird.
    - Verfahren nach Anspruch 18, wobei gleichzeitig eine Ohrmarkierung des Tiers durchgeführt wird.
    - 20. Verfahren zur Typisierung von Tierpopulationen, wobei Proben mit einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16 gewonnen, in einem Labor analytisch untersucht und katalogisiert werden.
- 30 21. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16 zur Gewinnung einer DNA-haltige Zellen enthaltenden Probe aus einem Tier.

1/4



ERSATZBLATT (REGEL 26)

2/4





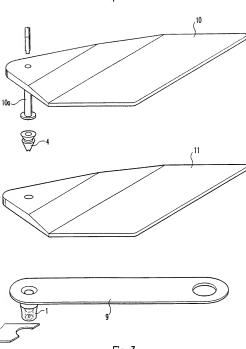
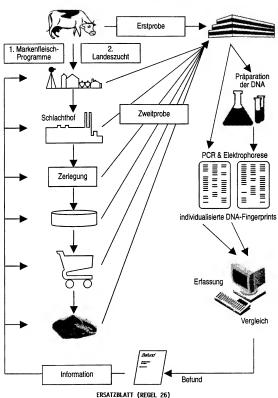


Fig. 3

4/4

Fig. 4 DNA-Individual-Typisierung Rind



### INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern al Application No PCT/EP 98/03075

### A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 G01N1/08 //C12Q1/68,A22B5/00,G01N33/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

### B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 G01N A61D A61B A22B C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96 13214 A (BOSTON SCIENT CORP) 9 May 1996 see the whole document	1,5,6, 13,17,21
A	US 5 126 276 A (FISH FALK ET AL) 30 June 1992 see column 3, line 53 - column 4, line 16 see column 5, line 7 - column 5, line 14 see column 8, line 26 - column 8, line 50 see figure 2	1,2,5,6, 17,21
A	US 5 741 177 A (ROBERTS DENIS WILLIAM ET AL) 21 April 1998 see the whole document	1,5,6

Further documents are listed in the continuation of box C.	X Patent family members are listed in ennex.
*Special categories of cited documents:  **A document staking the general state of the set which is not  **E earlier document total published on or either the international  **It document which published on or deter the international  **It document which may prove docube on priority criterius or  cultation or other special research (see specified)  **Odocument service on or and docubers, and entitles or  **Podocument suitable of prior to the international filting date but  slate that the good right date called	These document published effer the international filling data clear to understand the principle or theory underlying the clear to understand the principle or theory underlying the review of the control or the control or consistency or control to consistency or cannot be consistency or control to consistency or control to consistency or
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 January 1999	29/01/1999
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentisan 2 NL - 2280 HV Blewilk	Authorized officer
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.	Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Inter nat Application No PCT/EP 98/03075

INTON) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
US 5 396 898 A (BITTMANN PETER ET AL) 14 March 1995 see column 2, line 27 - column 4, line 3 see figures 1-5	1,6
US 4 230 001 A (NOLL ERWIN ET AL) 28 October 1980 see column 1, line 61 - column 2, line 19 see column 4, line 18 - column 4, line 68 see figure 1	14,15, 18,19
EP 0 734 768 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH)	17
see page 3, line 14 - page 4, line 9 see page 4, line 52 - page 5, line 58	1,3-5
see page 6, line 19 - page 6, line 36 see figures 1,2	13
GB 2 137 340 A (DICKEY JOHN CORP) 3 October 1984	1,5
	14 March 1995 see column 2, line 27 - column 4, line 3 see figures 1-5  US 4 230 001 A (NOLL ERWIN ET AL) 28 October 1980 see column 1, line 61 - column 2, line 19 see column 4, line 18 - column 4, line 68 see figure 1  EP 0 734 768 A (BOCHRINGER MANNHEIM GMBH) 2 October 1996 see page 3, line 14 - page 4, line 9 see page 4, line 52 - page 5, line 58 see page 6, line 19 - page 6, line 36 see figures 1,2  GB 2 137 340 A (DICKEY JOHN CORP)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on petent family members

Inter rial Application No PCT/EP 98/03075

Patent document cited in search report	t	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
W0 9613214	A	09-05-1996	CA	2202613 /	
			EP	0841874	20-05-1998
			JP	10507952	04-08-1998
US 5126276	Α	30-06-1992	FR	2573872	
			JP	2113976	
			JP	8023558	
			JP	61181965 /	14-08-1986
US 5741177	Α	21-04-1998	AU	681962	
			AU	2328295 /	A 08-02-1996
			NZ	272451 /	24-11-199
US 5396898	Α	14-03-1995	EP	0590219	
			JP	7246085	26-09-1999
US 4230001	Α	28-10-1980	NON	E	
EP 0734768	Α	02-10-1996	DE	29505652 (	J 25-04-1996
			DE	19512360 /	A 02-10-1996
			EP	0734767	
			EP	0734769	A 02-10-1996
			JP	8278312	
			JP	8278239	
			JP	8278234 /	
			NO	961270 /	01-10-199
GB 2137340	Α	03-10-1984	US	4534229	
			AU	565162	
			AU	2368184	
			BR	8401346	
			CA	1216458	
			DE	3410554	
			DK	106084	
			FR	2543296	
			GB	2185319	
			JP	59174734	03-10-1984

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inte maies Aktenzeichen
PCT/EP 98/03075

#### A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGGGEGENSTANDES IPK 6 G01N1/08 //C1201/68,A22B5/00,G01N33/12

Nach der Internationalen Patentiklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Rechercherter Mindesprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationesymbole.)

IPK 6 G01N A61D A61B A22B C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfetoff gehörende Varöffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und avtl. verwendete Suchbegriffe)

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, sowalt erforderlich unter Angabi	be der in Betrecht kommenden Teile Betr. Anspruch Nr.		
A	WO 96 13214 A (BOSTON SCIENT CORP 9. Mai 1996 siehe das ganze Dokument	1,5,6, 13,17,21		
A	US 5 126 276 A (FISH FALK ET AL) 30. Juni 1992 siehe Spalte 3, Zeile 53 - Spalte 16 siehe Spalte 5, Zeile 7 - Spalte	4, Zeile	1,2,5,6, 17,21	
A	14 siehe Spalte 8, Zeile 26 - Spalte 50 siehe Abbildung 2 US 5 741 177 A (ROBERTS DENIS WIL AL) 21. April 1998 siehe das ganze Dokument		1,5,6	
X Well		X Slohe Anhang Patentfamilie		
* Besonden  "A" Veröffe aber n  "E" åtteres Anmel  "L" Veröffe scheir anden anden anden eine B  "O" Veröffe eine B  "P" Veröffe	eitemen  Keitagonen von angespielenen Veröffertildnungen  reiterung, die dem algemeinen Stand der Technik delfriert,  rote allevanden sicherten dem  keitagen von der  keitagen dem standen dem  keitagen von der  keitagen von  keitagen von  keitagen von  keitagen  keitagen	**T* Spätsere Veröffentlichung, die nach dem oder dem Prioritätsstatum veröffentlich Ammeidung nicht kollidient, sondern nu Erfindung zugrundeligenden Prinzipe Theore angegeben ist "Veröffentlichung von besonderer Bedei kann allein aufgrund deser Veröffentlich kann allein aufgrund deser Veröffentlich ***Theore in verbeit sich seine stellt sein seine kann allein aufgrund deser Veröffentlich ****Theore in verbeit seine seine seine seine ***Theore seine seine seine seine seine seine seine *****Theorem seine seine seine seine seine seine ****Theorem seine seine seine seine seine seine ****Theorem seine seine seine seine seine seine ***Theorem seine seine seine seine seine seine ***Theorem seine seine seine seine seine seine seine ***Theorem seine seine seine seine seine seine seine ***Theorem seine seine seine seine seine seine ***Theorem seine seine seine seine seine seine seine ***Theorem seine seine ***Theorem seine sein	t worden ist und mit der zum Versätndis des der oder der ihr zugrundellegenden Aufrig, die beenspruchte Erfindu- brung nicht als neu oder auf ochset werden utung; die beenspruchte Erfindu set beruhend beinschtet einer oder mehreren anderen Verbindung gebracht wird und naheliegend ist.	
	Abechluseee der Internationalen Recherche  1. Januar 1999	Absendedatum dee Internationalen Re 29/01/1999	cherchenberichts	
	Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patenfarmt, P.B. 5818 Patenfilsen 2 NL 2280 HV Rijewejk Tet. (-31-70) 340-3204, Tx. 31 651 epo nl, Facr (-31-70) 340-3216	Bevolimächtigter Bediensteter  Koch. A		

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Interr value Aktenzeichen
PCT/EP 98/03075

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Kategorie\* Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile Betr, Anspruch Nr. 1,6 US 5 396 898 A (BITTMANN PETER ET AL) 14. März 1995 siehe Spalte 2, Zeile 27 - Spalte 4, Zeile siehe Abbildungen 1-5 14.15. Α US 4 230 001 A (NOLL ERWIN ET AL) 18,19 28. Oktober 1980 siehe Spalte 1. Zeile 61 - Spalte 2. Zeile 19 siehe Spalte 4, Zeile 18 - Spalte 4, Zeile siehe Abbildung 1 EP 0 734 768 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 17 2. Oktober 1996 siehe Seite 3, Zeile 14 - Seite 4, Zeile 9 siehe Seite 4, Zeile 52 - Seite 5, Zeile 1,3-5 siehe Seite 6. Zeile 19 - Seite 6. Zeile 13 siehe Abbildungen 1,2 GB 2 137 340 A (DICKEY JOHN CORP) 1,5 3. Oktober 1984

Formblett PCT/ISA/210 (Fortsetzung von Blett 2) (Auf 1992)

1

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffenbichungen, die zur seiben Patenifamilie gehören

Interr sies Aktenzeichen
PCT/EP 98/03075

						30,000.0
	cherchenbench tee Patentdoku		Datum der Veröffentlichung		itglied(er) der Patentlamilie	Datum der Veröffentlichung
WO	9613214	A	09-05-1996	CA	2202613 A	09-05-1996
				EP	0841874 A	20-05-1998
				JP	10507952 T	04-08-1998
US	5126276	Α	30-06-1992	FR	2573872 A	30-05-1986
				JP	2113976 C	06-12-1996
				JP	8023558 B	06-03-1996
				JP	61181965 A	14-08-1986
US	5741177	Α	21-04-1998	AU	681962 B	11-09-1997
				AU	2328295 A	08-02-1996
				NZ	272451 A	24-11-1997
US	5396898	Α	14-03-1995	EP	0590219 A	06-04-1994
-				JP	7246085 A	26-09-1995
US	4230001	A	28-10-1980	KEII	VE	
EP	0734768	Α	02-10-1996	DE	29505652 U	25-04-1996
				DE	19512360 A	02-10-1996
				EP	0734767 A	02-10-1996
				EP	0734769 A	02-10-1996
				JP	8278312 A	22-10-1996
				JP	8278239 A	22-10-1996
				JP	8278234 A	22-10-1996
				NO	961270 A	01-10-1996
GB 2137340 A	A	03-10-1984	US	4534229 A	13-08-1985	
			AU	565162 B	10-09-1987	
			AU	2368184 A	27-09-1984	
			BR	8401346 A	30-10-1984	
			CA	1216 <b>45</b> 8 A	13-01-1987	
			DE	3410554 A	27-09-1984	
				DK	106084 A	25-09-1984
				FR	2543296 A	28-09-1984
				GB	2185319 A,B	15-07-1987
				JP	59174734 A	03-10-1984